Quoi qu'il en soit, il résulte de cet essai expérimental que le fait d'avoir modifié la nutrition d'une tige de Ronce en la forçant à se maintenir dans une position verticale, et à ne produire de racines que par une extrémité, à la façon d'une plante ordinaire, d'un Églantier par exemple, a modifié profondément la biologie de la plante.

Au lieu de ne produire, comme à l'état normal, que des rameaux de premier ordre et de mourir ensuite à la fin de la seconde saison, la tige a pu prolonger son existence pendant trois et quatre années, et donner naissance successivement à des rameaux fleuris de second ordre et à des rameaux de troisième ordre qu'on n'observe jamais dans la nature.

M. Lutz fait la communication suivante :

SUR LE ROLE DES ALCALOIDES ENVISAGÉS COMME SOURCE D'AZOTE POUR LES VÉGÉTAUX; par M. L. LUTZ.

J'ai constaté précédemment (1) que les alcaloïdes offerts aux végétaux et principalement aux Champignons comme unique aliment azoté se conduisent comme des substances inassimilables, mais que leur association à un sel azoté directement utilisable, l'azotate d'ammoniaque, par exemple, se traduit par une abondante assimilation non seulement de ce sel azoté, mais encore de l'alcaloïde.

Interprétant ces résultats, Clautriau (2), dans un important mémoire posthume, suppose que les Champignons ont besoin d'avoir acquis un certain degré de développement pour parvenir à détruire et à utiliser la molécule alcaloïdique.

Il m'a paru de quelque intérêt de vérifier cette hypothèse en faisant végéter des Champignons inférieurs dans un liquide nutritif contenant de l'azote directement assimilable, puis en remplaçant, au bout d'un temps suffisant, le premier liquide nutritif par un second de composition élémentaire analogue, mais dans lequel l'azote se trouverait tout entier à l'état alcaloïdique.

(1) L. Lutz, *Recherches sur la nutrition des végétaux à l'aide de substances azotées de nature organique* (*Ann. Sc. nat.* Bot., 1899, p. 1.

(2) Clautriau, *Nature et signification des alcaloïdes végétaux*. Bruxelles, Lamertin édit., 1900.

Pour qu'un semblable essai fût concluant, il était de toute nécessité de se mettre à l'abri des contaminations microbiennes et aussi d'éliminer, au moment du changement de milieu, toute trace d'azote assimilable provenant du premier liquide nutritif.


J'ai donc imaginé le dispositif suivant :

Le vase de culture (C) est une fiole d'Erlenmeyer dans le fond de laquelle est soufflée une petite ampoule. Le goulot est fermé par un bouchon de caoutchouc à 4 trous donnant passage à quatre tubes de verre (a b c d). Deux de ces tubes (a et d) plongent jusqu'au fond et aboutissent dans l'ampoule même. L'un d'eux (d) est courbé à angle aigu et terminé en pointe effilée scellée à la lampe. Le tube (a), coudé à angle droit, est également fermé au début de l'opération. Le troisième tube (b) porte un renflement garni de coton et plonge à la partie supérieure du vase d'Erlenmeyer ; le quatrième, plus gros et court, est droit : il est également bouché au coton et servira pour l'introduction d'un fil de platine chargé de semence.

On dispose d'autre part un flacon laveur (L) constitué par un grand ballon dont la capacité devra être 8 à 10 fois celle du vase de culture, ainsi qu'une deuxième fiole d'Erlenmeyer (A), dont le fond est muni d'une ampoule et qui servira à la conservation du second liquide de culture que l'on substituera aseptiquement à celui du vase (C) après développement convenable du Champignon. Ces deux appareils sont bouchés par un bouchon de caoutchouc à deux trous laissant passer deux tubes qui plongent : l'un à la partie supérieure, l'autre jusqu'au fond. Le premier porte un renflement muni de coton ; au second sera ajusté un raccord en caoutchouc (r) que l'on recouvrira par un manchon de verre (m) maintenu par un tampon de coton.

Le fonctionnement du système est facile à imaginer. Lorsque la culture du vase (C) aura duré assez longtemps, on brisera après flambage la pointe effilée du tube (d) que l'on maintiendra dans l'atmosphère d'une flamme ; en (b), on adaptera une poire en caoutchouc, puis, bouchant avec le doigt l'extrémité du tube (C), on expulsera le liquide de culture par insufflation d'air. Grâce à l'ampoule soufflée au fond du vase (C), on peut vider le liq ide d'une façon presque totale.

On coupe alors à la lime l'extrémité scellée du tube (a), on flambe et, tout en maintenant l'extrémité ouverte dans l'atmosphère



Appareil servant à la culture pure des Champignons inférieurs en faisant varier le milieu au cours de la végétation.
C, foliole dans laquelle se fait la culture; L, ballon laveur; A, foliole contenant le liquide nutritif destiné à remplacer celui de la fiole C.
(Voyez le texte pour l'explication des autres lettres.)

d'une flamme, on y adapte le raccord en caoutchouc du flacon laveur que l'on découvre également dans l'atmosphère de la flamme. A l'aide d'une autre poire adaptée au deuxième tube adducteur du laveur, on fait alors passer une certaine proportion du liquide de lavage dans le vase (C), puis, interrompant la communication entre (L) et (C) au moyen d'une pince de pression fixée sur le raccord, on vide de nouveau (C), et on recommence à plusieurs reprises jusqu'à ce que le liquide sortant en (d) ne contienne plus trace des substances dissoutes dans le milieu de culture primitif.

On retire alors tout le système (L), y compris le raccord en caoutchouc, toujours en opérant dans l'atmosphère d'une flamme, et on le remplace par le système (A) en observant les mêmes précautions. On transvase de la même manière le liquide de (A) en (C), après quoi on scelle de nouveau les tubes (a) et (d) du système (C).

On conçoit que, si l'on opère avec soin, avec des vases et des milieux stériles, on puisse faire tous les lavages et transvasements sans que les divers liquides aient été en contact direct avec l'air non stérilisé et, par suite, d'une manière entièrement aseptique.

Examinons maintenant les détails de l'expérience.

Pour chaque Champignon et chaque alcaloïde, il convient de faire trois essais comparatifs :

Le premier consistera dans une culture servant de type sur liquide de Raulin. (Pour éviter l'action possible de l'acide tartrique sur les alcaloïdes pendant la stérilisation, on se servira du liquide de réaction neutre que j'ai employé dans les recherches auxquelles j'ai fait allusion précédemment.)

Un deuxième essai se fera en ensemençant le Champignon dans le même liquide de Raulin neutre. Lorsque le développement sera suffisant, on soutirera ce liquide et on lavera soigneusement le Champignon avec une solution azotée aussi isotonique que possible de la première, c'est-à-dire avec du liquide de Raulin neutre sans azotate d'ammoniaque, et cela jusqu'à ce que le produit de lavage recueilli en (d) ne se colore plus sous l'action du réactif de Nessler (disparition totale de l'ammoniaque). On substitue alors au premier liquide un nouveau milieu à base de liquide de Raulin neutre, mais dans lequel tout l'azote est à l'état alcaloïdique.

Le troisième essai sera commencé comme le second, mais, après

SUBSTANCES	RAULIN NEUTRE AVEC AZOTE	RAULIN NEUTRE SANS AZOTE	COCAINE	QUININE	MORPHINE
Eau distillée	1500	1500	1500	1500	1500
Sucre candi	70	70	15.49	37.95	15.52
Tartrate neutre de potasse	13.76	13.76	13.76	13.76	13.76
Azotate d'ammoniaque	4.50	»	»	»	»
Phosphate de potasse	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60
Carbonate de magnésie	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
Sulfate de potasse	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
Sulfate de zinc	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Sulfate de fer	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
Silicate de potasse	0.07	0.07	0.07	0 07	0.07
Chlorhydrate d'alcaloïde	»	»	38.20	20.95	42.24

lavage, on substituera du liquide de Raulin additionné d'alcaloïde, c'est-à-dire contenant à la fois de l'azote ammonical et de l'azote alcaloïdique.

Après développement suffisant, on recueillera les Champignons sur des filtres tarés, on les lavera, séchera et pèsera. Les eaux de lavage seront réunies et on y ajoutera les traces du liquide de culture resté dans le vase (A) en vue de faire, s'il y a lieu, le dosage de l'alcaloïde non utilisé par le Champignon.

Les essais ont porté sur les alcaloïdes suivants :

Cocaïne, quinine, morphine, employés à l'état de chlorhydrate.

Les espèces mises en culture ont été :

Aspergillus niger, *A. repens*, *Penicillium glaucum*.

Les liquides de culture à base d'alcaloïde ont été établis de manière à avoir la même composition élémentaire (1). Leurs formules sont résumées ci-après sous forme de tableau.

La première expérience de chaque série est faite à l'aide de 50 centimètres cubes de liquide de Raulin neutre ;

La seconde, commencée dans 50 cent. cubes de liquide de Raulin neutre, sera continuée dans 50 cent. cubes de l'un des liquides à base d'alcaloïde ci-dessus ;

La troisième est effectuée dans 50 cent. cubes de liquide à base d'alcaloïde auquel on ajoute uniformément 0 gr. 15 d'azotate d'ammoniaque, c'est-à-dire une proportion équivalente à celle contenue dans 50 cent. cubes de liquide de Raulin neutre.

Ces divers milieux ont été introduits dans les vases convenables préalablement stérilisés à l'autoclave, puis ils ont été eux-mêmes stérilisés par tyndalisation à 60°.

(1) Voy. pour plus de détails : L. Lutz, *loc. cit.*, p. 20.

I. — ASPERGILLUS NIGER.

Date de l'ensemencement : 25 septembre 1902.
Date du transvasement : 27 septembre.
Fin de l'expérience : 23 octobre.
Température de culture : 37°.

		Perte sur liq. de Raulin + alcaloïde
Poids de Champignon dans le liq. de Raulin type au moment du transvasement (27 septembre)..	$0^{gr}.078$	
Poids de Champignon dans liq. Raulin type + cocaïne à la fin de l'expérience.............	$0^{gr}.330$	
Poids de Champignon dans liq. cocaïne transvasé.	$0^{gr}.175$	$0^{gr}.155$
Poids de Champignon dans liq. Raulin type + quinine..............................	$1^{gr}.252$	
Poids de Champignon dans liq. quinine transvasé.	$0^{gr}.371$	$0^{gr}.881$
Poids de Champignon dans liq. Raulin type + morphine.............................	$0^{gr}.355$	
Poids de Champignon dans liq. morphine transvasé..................................	$0^{gr}.239$	$0^{gr}.116$

Analyse des liquides de culture à la fin de l'expérience.

Les Champignons avant d'être pesés ont été recueillis sur des filtres tarés et lavés soigneusement à l'eau distillée. Les eaux de lavage sont réunies au liquide filtré ; on y joint en outre les eaux de lavage du ballon bitubulé où était l'alcaloïde avant d'être transvasé dans les fioles de culture. Le tout est précipité par un excès d'iodure double de mercure et de potassium, et le poids d'iodomercurate comparé après dessiccation au poids du précipité fourni par une solution à dilution aussi rapprochée que possible de l'alcaloïde examiné. La morphine donnant un précipité gélatineux et par suite très difficile à purifier par simple lavage à l'eau distillée, n'a pas été dosée.

I. — Cocaïne

Poids de chlorhydrate de cocaïne mis en expérience par fiole . $1^{gr}.273$

A. — *Liquide transvasé* (sans azote d'ammoniaque).

Poids d'iodomercurate obtenu avec $0^{gr}.10$ de chlor. de cocaïne. $0^{gr}.318$
Poids obtenu avec le liquide de culture .... $3^{gr}.356$

Ceci correspond à $\frac{0,10 \times 3,3567}{0,318} = 1^{gr}.055$ de chlor. de cocaïne restant dans la liqueur.

Il en a donc été usé $1,273 - 1,055 = 0^{gr}.218$.

B. — *Liquide avec azotate d'ammoniaque.*

Poids d'iodomercurate. .... 1^{gr}.895.

Correspondant à $\frac{0,10 \times 1,895}{0,318}$ = 0^{gr}.525 de chlor. de cocaïne restant.

Il en a donc été usé 1.895 — 0.525 = 0^{gr}.748.

1.273

C. — *Comparaison.*

Chlorhydrate de cocaïne usé dans le liq. ammoniacal........	0^{gr}.748
— — non ammoniacal	0^{gr}.218
Différence en faveur du liquide ammoniacal	0^{gr}.530

II. — QUININE.

Pour ne pas répéter les mêmes calculs que précédemment, je mentionnerai seulement les résultats.

Poids de chlorhydrate de quinine mis en expérience : 0^{gr}.698.

Chlorhydrate de quinine usé dans le liquide ammoniacal.....	0^{gr}.306
— — non ammoniacal .	0^{gr}.107
Différence en faveur du liquide ammoniacal	0^{gr}.199

II. — ASPERGILLUS REPENS.

Date de l'ensemencement : 25 septembre 1902.

Date du transvasement : 27 septembre.

Fin de l'expérience : 23 octobre.

Température de culture : 37°

		Perte sur liq. de Raulin + alcaloïde.
Poids de Champignon dans le liq. de Raulin type au moment du transvasement...........	0^{gr}.096	
Poids de Champignon dans le liq. de Raulin type + cocaïne à la fin de l'expérience...........	0^{gr}.397	
Poids de Champignon dans liq. cocaïne transvasé.	0^{gr}.280	0^{gr}.117
Poids de Champignon dans liq. de Raulin type + quinine.............................	0^{gr}.755	
Poids de Champignon dans liq. quinine transvasé.	0^{gr}.5175	0^{gr}.2375
Poids de Champignon dans liq. de Raulin type + morphine	0^{gr}.558	
Poids de Champignon dans liq. morphine transvasé.	0^{gr}.440	0^{gr}118

Analyse des liquides de culture à la fin de l'expérience.

I. — Cocaïne.

Poids de chlorhydrate de cocaïne mis en expérience par fiole..	1gr.273
Chlorhydrate de cocaïne usé dans le liquide ammoniacal.....	0gr.947
— — non ammoniacal.	0gr.498
Différence en faveur du liquide ammoniacal................	0gr.449

II. — Quinine.

Poids de chlorhydrate de quinine mis en expérience par fiole..	0gr.698
Chlorhydrate de quinine usé dans le liquide ammoniacal.....	0gr.168
— — non ammoniacal..	0gr.123
Différence en faveur du liquide ammoniacal................	0gr.045

III. — PENICILLIUM GLAUCUM.

Date de l'ensemencement : 25 septembre 1902.
Date du transvasement : 3 octobre.
Fin de l'expérience : 18 novembre.
Température de culture : 15°.

		Perte su liq. de Raulin + alcaloïde.
Poids de Champignon dans le liq. de Raulin type au moment du transvasement..............	0gr.2185	
Poids de Champignon dans le liq. de Raulin type + cocaïne à la fin de l'expérience...........	0gr.447	
Poids de Champignon dans liq. cocaïne transvasé.	0gr.357	0gr.090
Poids de Champignon dans liq. de Raulin type + quinine..............................	0gr.903	
Poids de Champignon dans liq. quinine transvasé.	0gr.625	0gr.278
Poids de Champignon dans liq. de Raulin type + morphine............................	0gr.329	
Poids de Champignon dans liq. morphine transvasé.	0gr.288	0gr.031

Analyse des liquides de culture à la fin de l'expérience.

I. — Cocaïne.

Poids de chlorhydrate de cocaïne mis en expérience........	1gr.273
Chlorhydrate de cocaïne usé dans le liquide ammoniacal....	0gr.6905
— — non ammoniacal.	0gr.612
Différence en faveur du liquide ammoniacal..............	0gr.0785

II. — Quinine.

Poids de chlorhydrate de quinine mis en expérience par fiole.	0gr.698
Chlorhydrate de quinine usé dans le liquide ammoniacal.....	0gr.400
— — non ammoniacal.....	0gr.129
Différence en faveur du liquide ammoniacal (1).............	0gr.271

Remarques générales. — La comparaison de ces résultats montre que, dans tous les cas où l'on a opéré un transvasement du liquide azoté primitif pour lui substituer un liquide semblable mais dont l'azote, au lieu d'être à l'état ammoniacal soit à l'état alcaloïdique, le rendement en Champignon ainsi que la quantité d'alcaloïde consommée sont nettement inférieurs à ceux que l'on observe dans le cas du mélange des deux formes de composés azotés.

Rapprochons de ces faits la marche des cultures ; voici ce qu'on observe : au début de l'expérience, le développement des Mucédinées est normal et vigoureux dans tous les flacons. Aussitôt après le transvasement, ce développement se ralentit d'une manière brusque dans les fioles où vient d'être supprimé l'azotate d'ammoniaque. La moisissure continue bien à végéter, mais, au lieu de donner un mycélium dense et abondant, elle ne produit plus que des filaments grêles et courts, à peine feutrés et sur lesquels apparaissent bientôt quelques têtes sporifères de petites dimensions. Après quoi l'accroissement cesse tout à fait.

Dans ces conditions, il est naturel d'admettre que, malgré le coup de fouet donné au début de la végétation par l'azotate d'ammoniaque, le mycélium parvenu à un certain degré de développement ne peut pas encore se contenter de l'azote alcaloïdique.

Un certain poids d'alcaloïde a cependant disparu des liquides de culture. Ce fait peut s'expliquer si l'on remarque qu'une quantité plus ou moins grande d'azotate d'ammoniaque a pénétré au début de la végétation dans les hyphes du Champignon; cet azote a permis à une nouvelle proportion d'alcaloïde de se transformer dans la plante en matières albuminoïdes, et c'est pour cette raison que le mycélium a continué à se développer

(1) Ces essais, répétés à plusieurs reprises, ont donné chaque fois des résultats concordants, sur lesquels, par suite, il n'y a pas lieu d'insister plus longuement.

encore pendant quelque temps; mais, lorsque tout cet azote ammoniacal est transformé, l'assimilation de l'alcaloïde cesse et avec elle l'accroissement du végétal.

On se trouve ainsi amené à conclure que l'interprétation donnée à nos premiers résultats par Clautriau paraît s'éloigner de la réalité. Si le Champignon, comme le supposait cet auteur, avait besoin d'être parvenu à un certain degré de développement pour assimiler les alcaloïdes, nul doute qu'à l'aide de l'artifice employé on ne fût parvenu à lui faire terminer son évolution. Or il n'en a rien été et la substitution de milieu a entraîné l'arrêt presque immédiat de la végétation. Il faut donc admettre que la présence simultanée d'azote ammoniacal et d'un alcaloïde est nécessaire pour que cette dernière substance puisse être utilisée par le Champignon.

Cette suite d'observations présente un certain parallélisme avec ce qui a lieu pour l'asparagine et quelques autres amides. On sait, en effet, que l'asparagine se conduit comme une sorte de moyen terme entre la matière minérale et les albuminoïdes : elle peut prendre naissance aux dépens des albuminoïdes et les régénérer au contact d'un excès d'hydrates de carbone; lorsqu'il y a pénurie de ces dernières substances, la régénération est entravée et l'asparagine s'accumule dans les tissus.

De même, dans les végétaux, les alcaloïdes ne sont susceptibles de se transformer en albuminoïdes qu'en présence d'un excès d'azote minéral; ce fait expérimental peut d'ailleurs être rapproché des remarques bien connues relatives à la teneur en alcaloïdes de certaines plantes, la belladone et l'aconit, par exemple, très riches lorsqu'elles poussent dans les terrains pauvres, forêts ou décombres, pauvres au contraire quand on les cultive dans les jardins où elles trouvent un sol riche en nitrates.

Sans prétendre trancher d'une manière définitive la question du rôle des alcaloïdes dans les végétaux, il semble que ce parallélisme mérite d'attirer l'attention. On pourrait alors envisager les alcaloïdes, non comme des substances de réserve au sens propre du mot, ou comme de simples déchets, mais bien comme des moyens termes entre la matière minérale azotée et les albuminoïdes, dont l'utilisation serait subordonnée à un afflux d'azote minéral, de même que celle de l'asparagine est liée à la présence d'hydrates de carbone en excès.